

PCT/EP2004/000020 23 Sep. 2004

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



REC'D 12 NOV 2004

WIPO

PCT

E0416320

Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

BEST AVAILABLE COPY

Aktenzeichen: 103 26 821.9

Anmeldetag: 11. Juni 2003

Anmelder/Inhaber: Medical Enzymes AG,
12247 Berlin/DE

Bezeichnung: Pharmazeutische Kombinationspräparate
zur Krebstherapie

IPC: A 61 K, A 61 P

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 16. September 2004
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Ebert



5

Pharmazeutische Kombinationspräparate zur Krebstherapie

10

Beschreibung

20

Die Erfindung betrifft pharmazeutische Kombinationspräparate, die das abnormale Wachstum von Tumorzellen inhibieren. Diese Kombinationspräparate umfassen als Wirkstoffe Verbindungen, die Glutaminase-Aktivität besitzen, in Kombination mit Antineoplastika. Insbesondere betrifft die Erfindung Kombinationspräparate von Glutaminase-Aktivität aufweisenden Verbindungen mit cytostatisch wirksamen Verbindungen.

25

Unter dem Oberbegriff Krebs ist eine Vielzahl verschiedener bösartiger (maligner) Erkrankungen zusammengefasst, die sich dadurch auszeichnen, dass Zellen unkontrolliert wachsen, eine Zelldifferenzierung fehlt und benachbarte Gewebe durchdrungen sowie Metastasen gebildet werden. Nahezu jedes Gewebe kann Ursprung für eine solche maligne Erkrankung sein.

30

35

Heutige Standard-Krebstherapien mit antineoplastischen Wirkstoffen bergen trotz der fortgeschrittenen Entwicklung erhebliche Nachteile und Risiken für den Patienten. Aufgrund ihres unspezifischen antiproliferativen Effekts und der hohen Dosierung werden durch diese Antineoplastika nicht nur Tumorzellen, sondern auch gesunde, schnell wachsende Zellen geschädigt, wie z.B. Schleimhäute, Zellen des Blutbildenden Systems (Knochenmark) und Haarfollikel. Die Behandlung mit Antineoplastika ist daher meist mit starken Nebenwirkungen verbunden, die das allgemeine Wohlbefinden von Patienten beeinträchtigen (akute Nebenwirkungen), zu irreversiblen Schädigungen von gesundem Gewebe führen und das Risiko von Zweittumoren erhöhen. Ferner

5 können Tumore Resistenzen gegen Wirkstoffe ausbilden, was bei Mehrfach-
Anwendungen an einem Patienten zum Wirkungsverlust führt.

10 Zur Erzielung besserer Wirksamkeiten und Verminderung der Resistenzbildung
werden häufig mehrere Wirkstoffe kombiniert und gleichzeitig zur Therapie
eingesetzt (Polychemotherapie). Trotz dieser Strategie sind die oben
beschriebenen Probleme bisher nicht zufrieden stellend gelöst. Es ist aus
wirtschaftlicher und medizinischer Sicht daher dringend erforderlich, neue und
schonende Therapien für die Krebsbekämpfung zu finden.

15 Ein möglicher Ansatz zur Therapie solcher maligner Erkrankungen ist die
Reduktion der Glutamin-Konzentration im Blutkreislauf. Glutamin ist die
häufigste Aminosäure im Blutkreislauf und spielt als Stickstoff- und
Energiequelle sowie als Basiskomponente für viele zelleigene Synthesen eine
große Rolle. Insbesondere Tumorzellen sind aufgrund ihres starken
20 Wachstums auf Glutamin aus dem Blutkreislauf angewiesen.

25 In den 1980er Jahren wurden zahlreiche Ansätze verfolgt, Glutamin spaltende
Enzyme oder reaktive Glutaminanaloga zur Krebstherapie einzusetzen, die den
Tumoren das benötigte Glutamin entziehen. Roberts et al. zeigten, dass
Pseudomonas 7A Glutaminase-Asparaginase eine antineoplastische Aktivität
gegen eine Vielzahl von Leukämie-Erkrankungen bei Nagern, gegen Ascites-
Tumoren und bestimmte solide Tumore besitzt (DE 41 40 003 A1 und WO
94/13817 A1). Zusätzlich wurde in Tierexperimenten mit athymischen Mäusen
ermittelt, dass die Kombination von Glutamin-Analoga (z.B. 6-diazo-5-oxo-L-
30 Norleucin (DON)) und Glutaminase stark inhibierend auf menschliche Kolon-,
Brust- und Lungenkarzinome wirkt (McGregor, W & Roberts, J (1989): Proc.
Amer. Assoc. Cancer Res. 30, 578). Ferner wurde gezeigt, dass die
Behandlung mit Glutaminase die Resistenzbildung gegen Methotrexat
verzögert (Roberts, J., Schmid, F.A. & Rosenfeld, H.J. (1979): Cancer Treat.
35 Rep.63: 1045 – 1054).

Die anfänglich viel versprechenden Tierversuche führten jedoch nicht zu
vermarktbaran Medikamenten, da alle Therapieansätze mit Glutaminase oder
Glutaminanaloga (z.B. DON, Acivicin) wegen zu starker toxischer

5 Nebenwirkungen abgebrochen werden mussten (Medina MA (2001), Glutamin and cancer, The Journal of Nutrition, Vol 131 (9): 2539S – 42S). Trotz des idealen Wirkprinzips einer Glutamin-Depletion-Therapie hat sich daher keine Therapie auf der Basis von Proteinen mit Glutaminase-Aktivität durchsetzen können.

10 Da jedoch bis heute Krebserkrankungen nur unzureichend behandelt werden können, wäre es von größter medizinischer und wirtschaftlicher Bedeutung, einen Weg zu finden, wie man den viel versprechenden Ansatz einer Glutamin-Depletion-Therapie in Zukunft nutzen kann.

Der vorliegenden Erfindung lag deshalb die Aufgabe zugrunde, die Wirkung von Antineoplastika zu steigern und Präparate bereitzustellen, die in Konzentrationen eingesetzt werden können, die keine bzw. geringe Toxizitäten und Antikörperbildung hervorrufen.

20 Überraschend wurde gefunden, dass an sich bekannte Antineoplastika in Kombination mit Verbindungen mit Glutaminase-Aktivität geeignet sind, diese Aufgabe zu lösen. Die Kombinationen wirken synergistisch, direkt oder indirekt toxisch auf sich teilende Zellen und können somit zur antineoplastischen Therapie eingesetzt werden. Die Glutaminase-Aktivität aufweisende Komponente dient als Verstärker, der die erforderliche Dosis von Antineoplastika senkt und die Nebenwirkungen sowie die Spätfolgen reduziert.

30 Insbesondere betrifft die Erfindung Kombinationspräparate von Verbindungen mit Glutaminase-Aktivität und cytostatisch wirksamen Verbindungen. Cytostatika sind in der antineoplastischen Therapie schon seit längerer Zeit ein anerkanntes und weit verbreitetes Behandlungsprinzip. Sie werden eingesetzt um maligne Zellen mit ungehemmtem Wachstumsverhalten zu zerstören. Normale und gesunde Zellen sollen möglichst wenig geschädigt werden.

35 Überraschenderweise wurde gefunden, dass Verbindungen, die Glutaminase-Aktivität besitzen, in Kombination mit Antineoplastika eine synergistische Wirkung ausüben. So wurde im Falle der Anwendung von Cytostatika

festgestellt, dass eine Verstärkung des antiproliferativen oder antitumoralen Effekts auftritt.

Im Sinne der vorliegenden Erfindung werden unter Verbindungen, die Glutaminase-Aktivität besitzen, die Proteine bzw. Enzyme Glutaminase; Glutaminase-Asparaginase; Glutaminase-Analoga; Derivate und Modifizierungen verstanden, die entweder auf natürliche Weise vorkommen oder synthetisch hergestellt werden und die die Glutaminproduktion hemmen. In einer Ausführungsvariante können die Verbindungen modifiziert oder mit Schutzsubstanzen versehen sein. Bevorzugt werden Polyethylenglykol modifizierte Verbindungen eingesetzt.

Unter Antineoplastika werden im Folgenden Substanzen verstanden, die geeignet sind und dazu verwendet werden, um Mikroorganismen, Parasiten oder Tumorzellen zu schädigen oder zu zerstören. Dabei sind insbesondere Cytostatika bzw. deren Derivate aus folgenden Gruppen zu nennen:

1. *Alkylierende und quervernetzende Verbindungen:* Sie schädigen DNA irreversibel; hierzu gehören Stickstofflost-Derivate wie Cyclophosphamid, Ifosfamid, N-Nitroso-Verbindungen wie Carmustin, Ethylenimin-(Aziridin) Derivate wie Thiotepa, Methansulfonate wie Busulfan, Platin-Komplexe wie Cisplatin, ferner Procarbazin, Melphalan u.a.
2. *Antimetabolite:* Sie verdrängen natürliche Stoffwechselbausteine; zum Beispiel Folsäure-Antagonisten wie Methotrexat, Nucleosid-Analoga wie Mercaptopurin, Fluoruracil u.a.
3. *Mitosehemmstoffe:* Sie hemmen den Aufbau oder Abbau der Kernspindeln, bes. Vinca-Alkaloide (zum Beispiel Vincristin, Vinblastin) und Taxane (zum Beispiel Paclitaxel)
4. *Cytostatische Antibiotika:* Anthracycline (zum Beispiel Daunorubicin, Doxorubicin), Bleomycin und Mitomycine schädigen die Zelle u.a. durch Interkalation in DNA und Hemmung von Topoisomerasen (zum Beispiel Etoposid) sowie Actinomycine, z.B. Actinomycin D und Mitoxantron
5. *Hormone und Hormon-Antagonisten:* Sie werden bei Tumoren eingesetzt, deren Wachstum hormonabhängig ist; hierher gehören (Anti-)Estrogene

5 (z.B. Tamoxifen) einschließlich Aromatase-Inhibitoren wie Formestan, Gestagene und Antiandrogene, wie z.B. Flutamid.

10 Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist neben den Kombinationspräparaten, die Verwendung von Antineoplastika mit Verbindungen, die Glutaminase-Aktivität besitzen, zur Behandlung von Krebs und anderen Krankheiten, die im Zusammenhang mit abnormaler Zellproliferation stehen.

Insbesondere bestehen solche Wirkstoffkombinationen aus einer Glutaminase-Asparaginase, vorzugsweise Pseudomonas 7A Glutaminase-Asparaginase, und einem oder mehreren Antineoplastika, aus den o.g. Gruppen.

20 Kombinationen dieser Erfindung zeichnen sich dadurch aus, dass die antitumorale Wirkung von herkömmlichen Antineoplastika durch Kombination mit einer Glutaminase-Aktivität aufweisenden Verbindung signifikant verstärkt wird und der Proteinwirkstoff selber in Konzentrationen eingesetzt wird, die keine toxischen Wirkungen hervorrufen.

25 In der vorliegenden Erfindung werden die Kombinationspräparate für die Krebstherapie eingesetzt. Es werden subtherapeutische Dosen einer Verbindung mit Glutaminase-Aktivität und Antineoplastika verwendet, die synergistisch das Tumorzellwachstum inhibieren. Das bedeutet, dass die Kombination der Wirkstoffe eine wesentlich größere antineoplastische Aktivität aufweist, als jeweils ein Wirkstoff dieser Wirkstoffklasse alleine.

30 Zu den antineoplastischen Wirkstoffen, die sich für eine Kombination eignen, gehören insbesondere, aber nicht ausschließlich: die DNS-alkylierenden Wirkstoffe Cyclophosphamid, Ifosfamid, Cisplatin, Melphalan; die Antimetaboliten Methotrexat, 5-Fluoruracil; die Spindel- oder Mikrotubuligifte Vincristin, Vinblastin, Paclitaxel; die DNS-Interkalatoren Doxorubicin, Daunomycin; der Topoisomerasehemmstoff Etoposid; die Antibiotika
35 Actinomycin D, Mitomycin, Mitoxantron; die Hormone Tamoxifen und Flutamid.

5 Die Anwendung einer Kombinationstherapie mit Hilfe der pharmazeutischen
Präparate der vorliegenden Erfindung bietet den Vorteil der synergistischen
Verstärkung der antitumoralen Wirksamkeit der Einzelsubstanzen. Dadurch
ergibt sich ferner die Möglichkeit der Reduktion der Dosen und damit der
Toxizitäten der Einzelsubstanzen bei gleichzeitiger Erhaltung der antitumoralen
10 Wirksamkeit bei Kombination der Einzelsubstanzen. Eine Kombinationstherapie
der o.g. Einzeltherapieprinzipien bietet ferner die Möglichkeit der Überwindung
von Cytostatika-Resistenzen, wobei sowohl Substanzgruppenresistenzen als
auch Mehrfachresistenzen (pleiotrope Cytostatikaresistenz) in Frage kommen.

15 Bei der Anwendung der Kombinationstherapie ist es möglich, die Wirkstoffe in
einer sogenannten fixen Kombination, d.h. in einer einzigen pharmazeutischen
Formulierung zu verabreichen, in der beide Wirkstoffe enthalten sind, oder eine
sogenannte freie Kombination zu wählen, bei der die Wirkstoffe in Form von
getrennten pharmazeutischen Formulierungen gleichzeitig oder aber auch
20 nacheinander appliziert werden können.

Sind die Wirkstoffe Feststoffe, so können die Wirkstoffe nach üblichen
Verfahren zu festen Arzneimittelpräparaten verarbeitet werden, indem man z.B.
beide Wirkstoffe miteinander vermischt und mit üblichen Träger- oder
25 Hilfsstoffen zusammen beispielsweise zu Tabletten verpresst. Es ist aber auch
möglich, die Wirkstoffe getrennt voneinander in einer verkaufsfertigen
Verpackungseinheit zur Verfügung zu stellen, wobei die Verpackungseinheit
die beiden Wirkstoffe in getrennten pharmazeutischen Formulierungen enthält.

30 Werden die Wirkstoffe in Form von Injektionslösungen zur Verfügung gestellt,
so können diese die in Frage kommenden Wirkstoffkombinationen bereits in
fertig injizierbarer gelöster Form enthalten. Prinzipiell ist es aber auch möglich,
je eine parenterale Formulierung für jeden in Frage kommenden Wirkstoff in
einer Verpackungseinheit zur Verfügung zu stellen, so dass die
35 Injektionslösungen gegebenenfalls getrennt voneinander appliziert werden
können. Bei Unverträglichkeiten der Wirkstoffe miteinander ist diese Form der
Anwendung die bevorzugte Methode.

5 Im Falle der parenteralen Darreichungsform können die Wirkstoffe auch in Substanz, gegebenenfalls zusammen mit üblichen pharmazeutischen Hilfsstoffen, beispielsweise in lyophilisierter Form vorliegen und durch Zugabe von pharmazeutisch üblichen Injektionsmedien rekonstituiert oder solubilisiert werden.

10

Die pharmazeutischen Präparate kommen in flüssiger oder fester Form zur enteralen oder parenteralen Applikation. Hierbei kommen alle üblichen Applikationsformen in Frage, beispielsweise Tabletten, Kapseln, Dragees, Sirupe, Lösungen, Suspensionen. Als Injektionsmedium kommt vorzugsweise Wasser zur Anwendung, welches die bei Injektionslösungen üblichen Zusätze wie Stabilisierungsmittel, Lösungsvermittler und Puffer enthält. Derartige Zusätze sind z.B. Tartrat- und Citratpuffer, Ethanol, Komplexbildner wie zum Beispiel Ethylendiamintetraessigsäure und deren nichttoxischen Salze, sowie hochmolekulare Polymere wie flüssiges Polyethylenoxid zur Viskositätsregelung. Flüssige Trägerstoffe für Injektionslösungen müssen steril sein und werden vorzugsweise in Ampullen abgefüllt. Feste Trägerstoffe sind zum Beispiel Stärke, Lactose, Kieselsäuren, höhermolekulare Fettsäuren wie Stearinsäure, Gelatine, Agar-Agar, Calciumphosphat, Magnesiumstearat, tierische und pflanzliche Fette, feste hochmolekulare Polymere wie Polyethylenglykole; für orale Applikation geeignete Zubereitungen können gewünschtenfalls Geschmacks- und Süßstoffe enthalten.

20

25

30

Die Dosierung kann von verschiedenen Faktoren, wie Applikationsweise, Spezies, Alter und individuellen Zustand abhängen. Die täglich zu verabreichenden Dosen liegen bei 0,005 - 100 mg/kg Körpergewicht pro Einzelkomponente.

35

Bei den Kombinationspräparaten kann sich das Verhältnis zwischen den Wirkstoffen in einem sehr weiten Bereich bewegen. So sind beispielsweise molare Verhältnisse zwischen 1 : 10 bis 1 : 1000 und 10 : 1 bis 1000 : 1 möglich, je nach Wirksamkeit der in Frage kommenden Wirkstoffe. Im Falle der Kombination mit Cytostatika ist ein Verhältnis zwischen 1 : 100 und 100 : 1 bevorzugt.

5

Die folgenden Beispiele belegen die synergistische Wirkung einiger repräsentativer Kombinationspräparate, und stehen stellvertretend für den in den Ansprüchen näher gekennzeichneten Erfindungsgedanken:

10

Beispiel 1

In-vitro Tests zur Untersuchung der anti-tumoralen Wirkung von Wirkstoffen

15

Die anti-tumorale Wirkung von Substanzen wurde in einem in-vitro Zellkultur-Test mittels Sulforhodamin-Methode untersucht (Boyd MR, The NCI In Vitro Anticancer Drug Discovery Screen. In: Anticancer Drug Development Guide: Preclinical Screening, Clinical Trials and Approval (Eds. Teicher B. and Totowa N), 1985-1995; Skehan P et al. (1990), „New Clorimetric Assay for Anticancer-Drug Screening“, J Natl. Can. Instit. 82: 1107-1112). Für den Test wurden Zelllinien aus Tumoren der Brust (MCF7), Lunge (NCI-H460, A549), Colon (SW-60, HT29) und CNS (SF-539) verwendet. Die Kultivierung der Tumorzellen erfolgte im RPMI 1640 Medium mit 7,5 % fötalem Kälberserum bei 37°C und 5 % CO₂. Nach Anwachsen der Zellen für 24 Stunden erfolgte die Inkubation mit den zu testenden Substanzen für 48 Stunden. Als Kontrolle dienten Ansätze ohne Wirkstoff, der Nullwert wurde vor Zugabe der Wirkstoffe bestimmt.

20

25

Die für die Versuche eingesetzten Antineoplastika wurden von Sigma in Zellkultur-Qualität bezogen.

30

Als Glutaminase wurde eine mit Polyethylenglykol modifizierte Pseudomonas 7A Glutaminase-Asparaginase (DE 41 40 003 A1, WO 94/13817 A1 und WO 02/31498 A2) verwendet.

Beispiel 2

35

Bestimmung von synergistischen Effekten

Nach der 48-stündigen Inkubationszeit wurden das Zellwachstum mittels Absorption des gebundenen Sulforhodamin-Farbstoffes bei 575 nm bestimmt. Das prozentuale Wachstum wurde wie folgt berechnet:

$$PW = \frac{(T_t - T_0)}{(C - T_0)} * 100$$

wobei

PW prozentuales Wachstum,

C für die unbehandelten Kontrollzellen steht,

T die Menge der behandelten Zellen bedeutet

und die Indices

0 und t für die Menge der Zellen zum Zeitpunkt 0 und nach 48 Stunden steht.

Beispiel 2a

Kombination aus Mitomycin und Glutaminase

In Abbildung 1 ist die anti-tumorale Wirkung von 0,026 µg/mL Mitomycin auf Zellen eines CNS Tumor (SF-539) und Brust (MCF7) Tumors alleine und in Kombination mit 0,001 U/mL Glutaminase dargestellt. Mitomycin alleine zeigt keine Wirkung auf CNS-Zellen, in Kombination mit Glutaminase wird das Wachstum im Vergleich zur Kontrolle auf 7 % reduziert. Mitomycin reduziert das Wachstum von Zellen des Brusttumors MCF7 auf 66 % im Vergleich zur Kontrolle. Durch Kombination mit 0,001 U/mL Glutaminase wird das Wachstum auf 40 % reduziert.

Beispiel 2b

Kombination aus Mitoxantron und Glutaminase

In Abbildung 2 ist die anti-tumorale Wirkung von 0,3 µg/mL Mitoxantron auf Zellen eines Brust (MCF7), Lungen (NCI-H460) und Colon (SW-60) Tumors alleine und in Kombination mit 0,001 U/mL Glutaminase dargestellt. Glutaminase allein zeigt nur geringe Wirkung auf die drei Tumoren. Mitoxantron reduziert das Tumorzell-Wachstum alleine auf 23 % bis 47 %. In Kombination wird das Wachstum von Zellen des Brust-, Lungen- und Colon-Tumors auf 1 %, 9 % bzw. 25 % reduziert.

5

Beispiel 2cKombination aus Cisplatin und Glutaminase

10

In Abbildung 3 ist die anti-tumorale Wirkung von 2 µg/mL Cisplatin auf Zellen eines Lungen (A549), Brust (MCF7) und Colon (HAT29) Tumors alleine und in Kombination mit 0,001 U/mL Glutaminase dargestellt. Cisplatin allein bewirkt eine Reduktion des Wachstums auf 41 %, 86 % bzw. 65 %. In Kombination mit Glutaminase wird das Wachstum der Tumorzellen auf 15 %, 18 % bzw. 2 % reduziert.

15

Beispiel 2dKombination aus Etoposid und Glutaminase

20

In Abbildung 4 ist die anti-tumorale Wirkung von 2,3 µg/mL Etoposid auf Zellen von Lungen (A549 und NCI-H23) und Brust (MCF7) Tumoren alleine und in Kombination mit 0,001 U/mL Glutaminase dargestellt. Etoposid allein reduziert das Wachstum dieser Zellen alleine auf ca. 40 % im Vergleich zur Kontrolle. In Kombination mit Glutaminase wird das Wachstum der Tumorzellen auf 18 % und 6 % bzw. 26 % reduziert.

25

Beispiel 2eKombination aus Melphalan und Glutaminase

30

In Abbildung 5 ist die anti-tumorale Wirkung von 68 µg/mL Melphalan auf Zellen eines Lungen (NCI-H23) Tumors alleine und in Kombination mit 0,001 U/mL Glutaminase dargestellt. Melphalan reduziert das Tumorwachstum auf 34 %. In Kombination mit Glutaminase wird das Wachstum auf 10 % reduziert.

35

5

Patentansprüche

1. Pharmazeutisches Kombinationspräparat zur Krebstherapie umfassend als Wirkstoffe
 - a) mindestens eine Verbindung mit Glutaminase-Aktivität und
 - b) mindestens ein Antineoplastikum.
2. Präparat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindung mit Glutaminase-Aktivität eine Glutaminase, Glutaminase-Asparaginase, Glutaminase-Analoga, Derivate oder Modifizierungen dieser sind und entweder natürlichen Ursprungs sind oder synthetisch hergestellt wurden.
3. Präparat nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindung mit Glutaminase-Aktivität aus *Pseudomonas* ist, vorzugsweise *Pseudomonas* 7A Glutaminase-Asparaginase.
4. Präparat nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindung mit Glutaminase-Aktivität modifiziert ist, vorzugsweise mit Polyethylenglykol.
5. Präparat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Antineoplastikum eine cytostatisch wirksame Verbindung umfasst.
6. Präparat nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Cytostatika aus der Gruppe der Alkylantien (DNS-alkylierende Wirkstoffe), der Antimetaboliten, der Spindel- oder Mikrotubuligifte, der Topoisomerasehemmstoffe, der Antibiotika einschließlich von DNS-Interkalatoren sowie der Hormone stammen oder beliebige Kombinationen dieser darstellen.

10

15

20

25

30

35

5

7. Präparat nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass es als Alkylantien Cyclophosphamid, Ifosfamid, Cisplatin und Melphalan umfasst.

10

8. Präparat nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass es als Antimetaboliten Methotrexat und 5-Fluoruracil umfasst.

15

9. Präparat nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass es als Spindel- oder Mikrotubuligifte Vincristin, Vinblastin und Paclitaxel umfasst.

20

10. Präparat nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass es als Topoisomerasehemmstoff Etoposid umfasst.

25

11. Präparat nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass es als Antibiotika Doxorubicin, Daunomycin, Actinomycin D, Mitomycin, und Mitoxantron umfasst.

30

12. Präparat nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass es als Hormon Tamoxifen und Flutamid umfasst.

35

13. Verfahren zur Herstellung von pharmazeutischen Präparaten gemäß einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass man die Wirkstoffe gegebenenfalls zusammen mit pharmazeutisch üblichen Träger- oder Hilfsstoffen vermischt und zu oralen oder parenteralen Applikationsformen verarbeitet.

- 5 14. Verwendung von Verbindungen, die Glutaminase-Aktivität besitzen, in Kombination mit Cytostatika bei der antineoplastischen Therapie.
- 10 15. Verfahren zur Behandlung von Krebs und anderen Krankheiten, die im Zusammenhang mit abnormaler Zellproliferation stehen, dadurch gekennzeichnet, dass man mindestens eine Verbindung mit Glutaminase-Aktivität und mindestens ein Antineoplastikum in einem molaren Verhältnis zwischen 1 : 10 bis 1 : 1000 und 10 : 1 bis 1000 : 1 appliziert, wobei die täglich zu verabreichenden Dosen bei 0,005 - 100 mg/kg Körpergewicht pro Einzelkomponente liegen.
- 15
- 20

In-vitro anti-tumorale Wirkung von 0,026 µg/ml Mitomycin
und 0,001U/mL Glutaminase

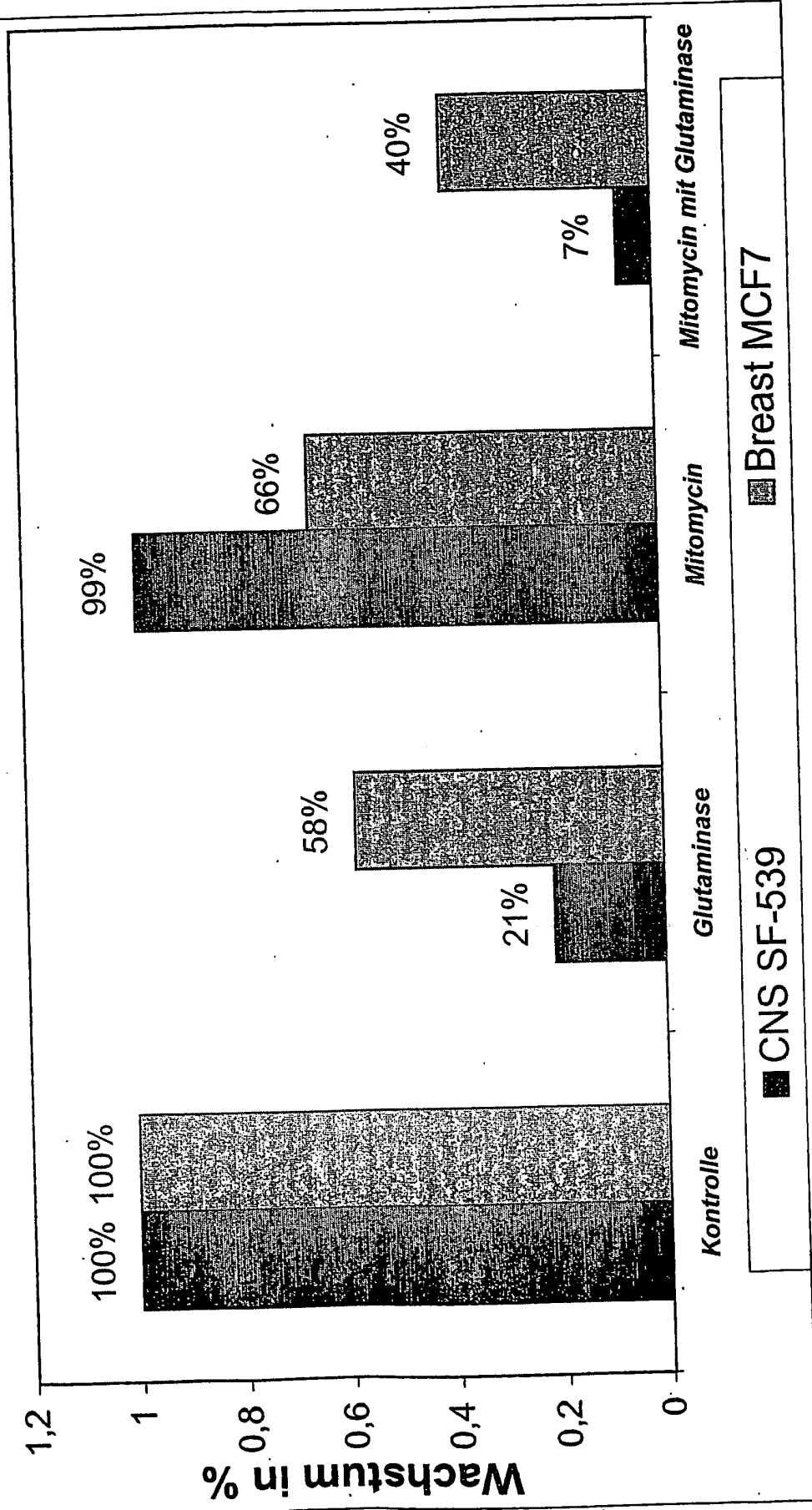
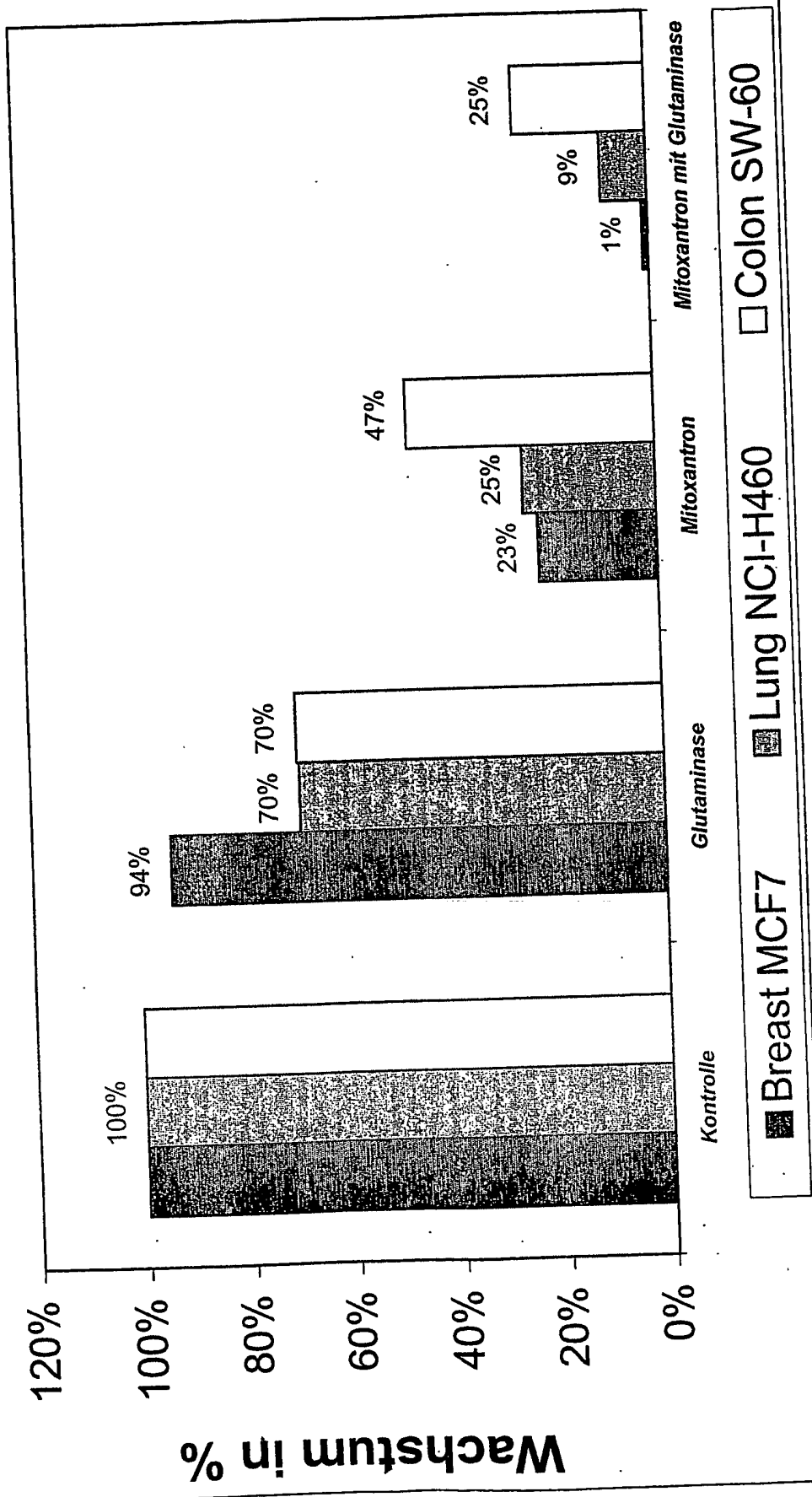
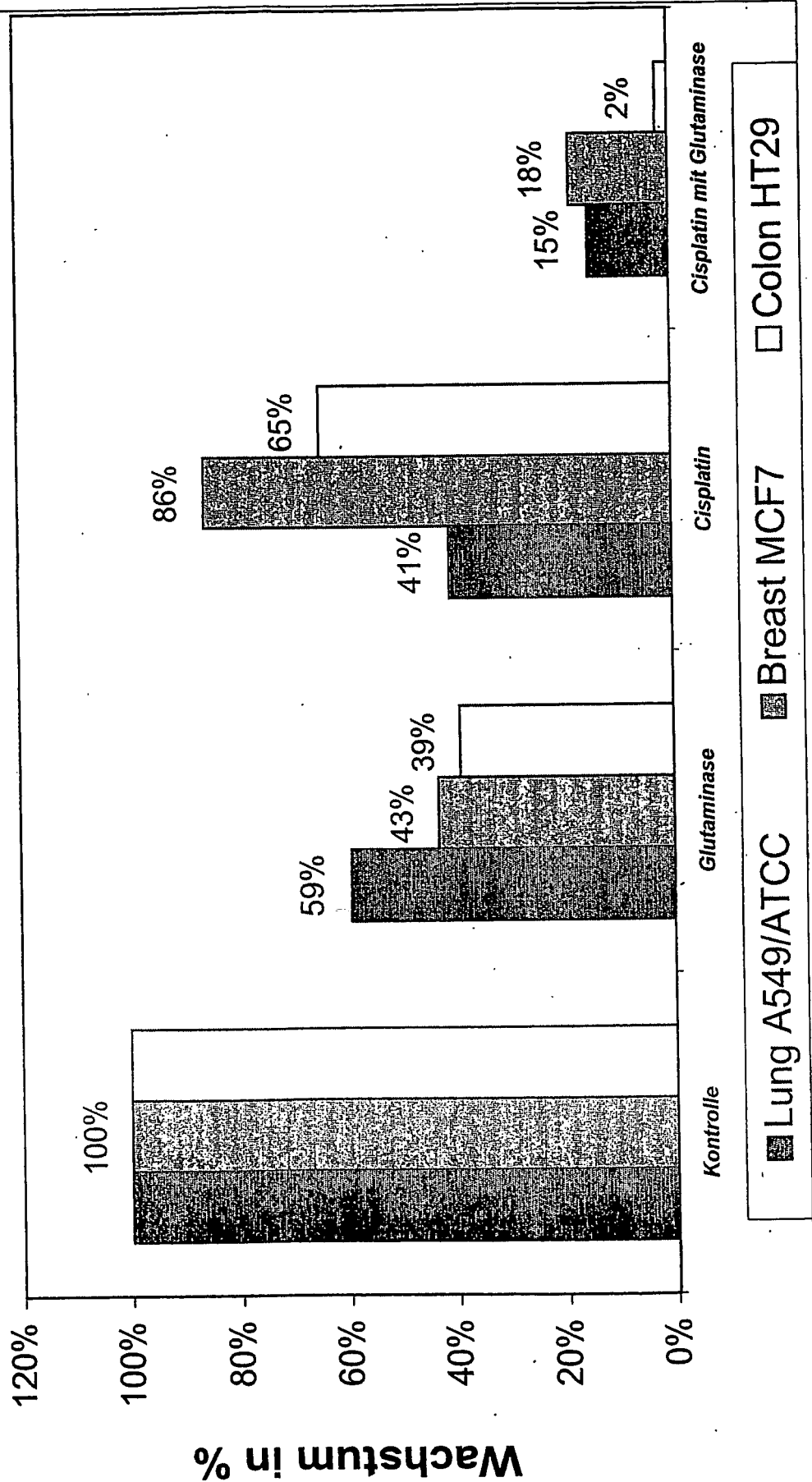


Abb. 1

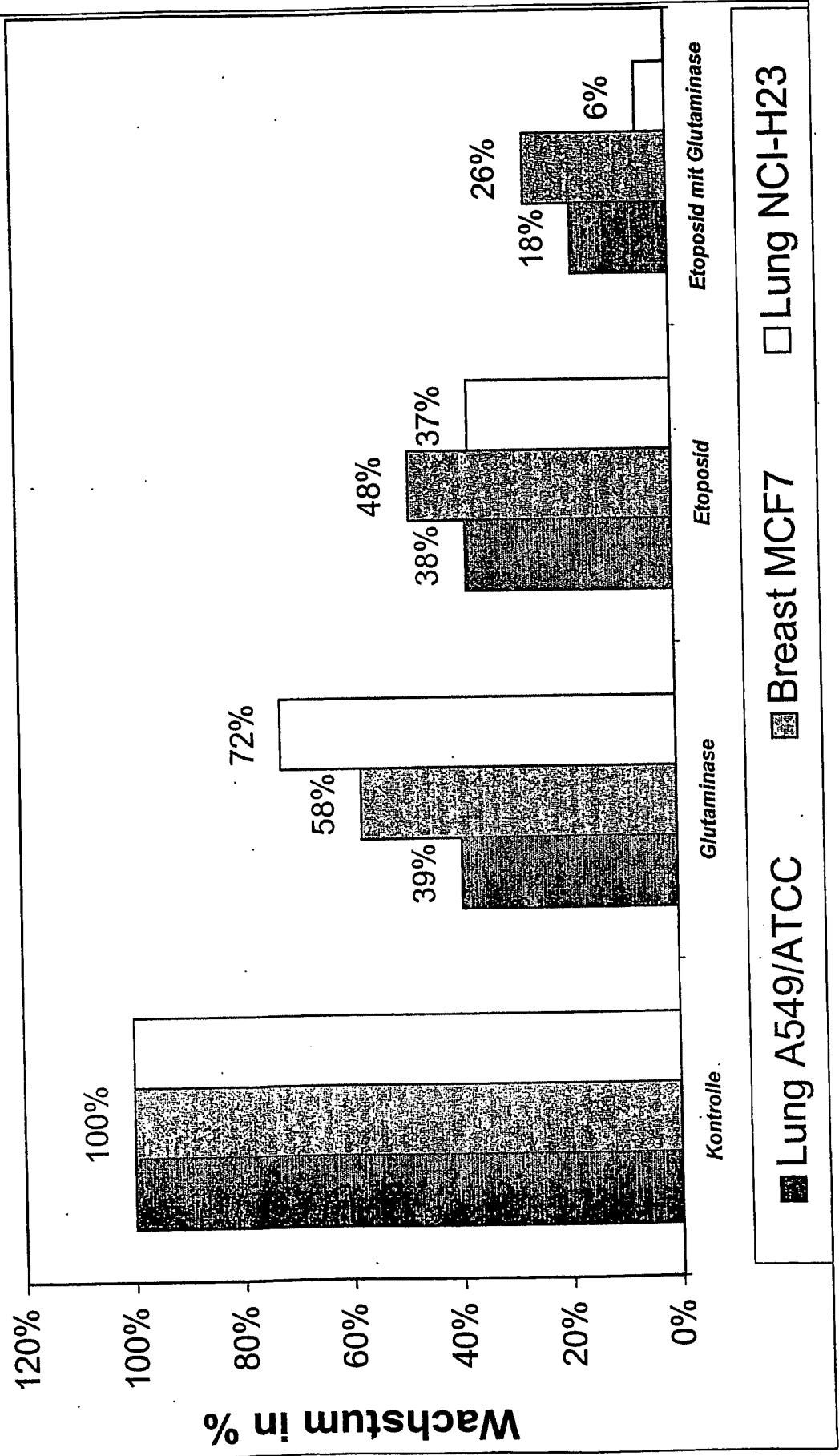
**In-vitro anti-tumorale Wirkung von 0,3µg/mL
Mitoxantron und 0,001 U/mL Glutaminase**



In-vitro anti-tumorale Wirkung von 2µg/mL Cisplatin und 0,001U/mL Glutaminase



In-vitro anti-tumorale Wirkung von 2,3µg/mL Etoposid und 0,001U/mL Glutaminase



Belegexemplar
Darf nicht geändert werden

Abb. 4

**In-vitro anti-tumorale Wirkung von 68 µg/ml Melphalan und
0,001U/mL Glutaminase**

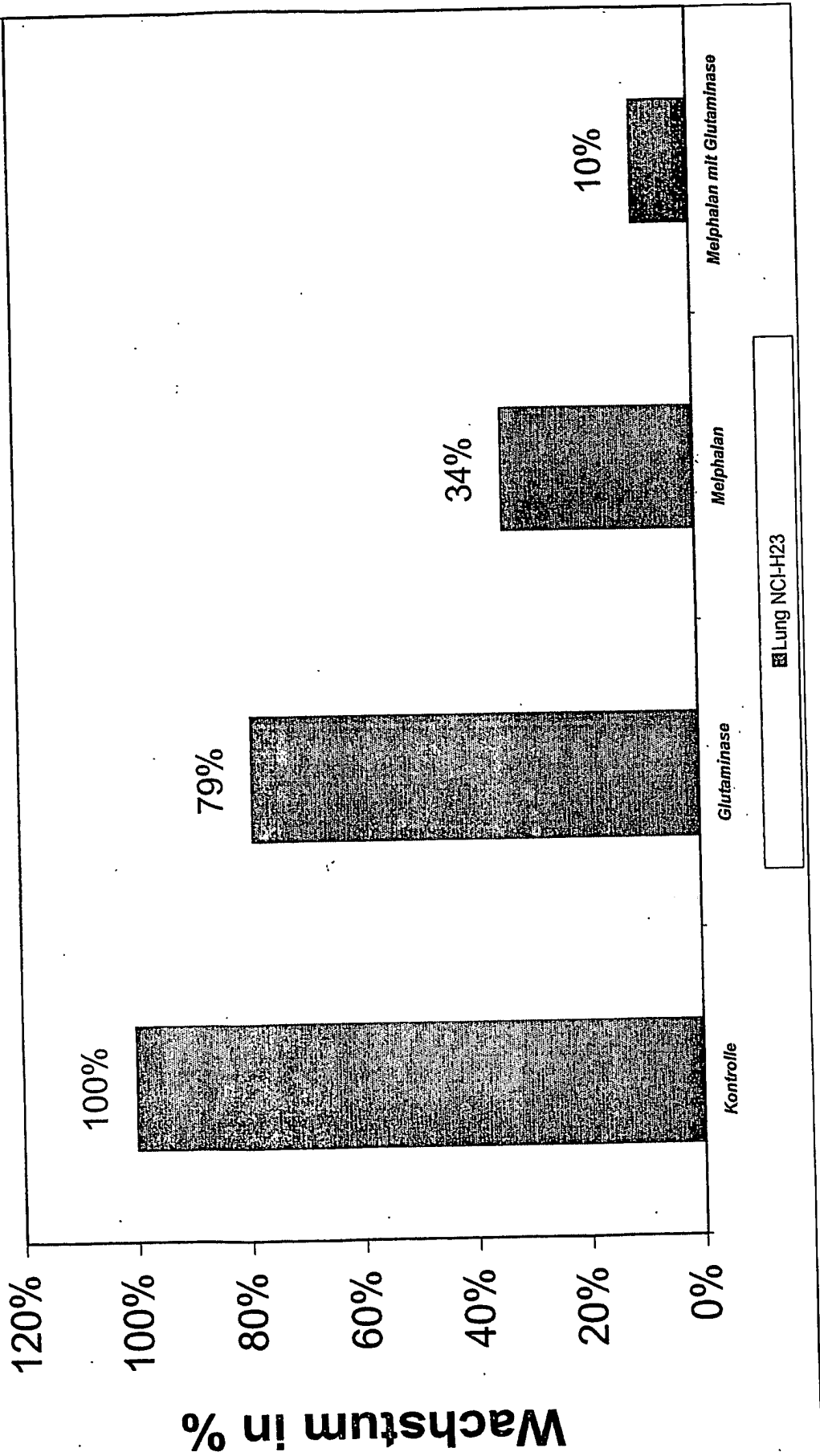


Abb. 5

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft pharmazeutische Kombinationspräparate, die das abnormale Wachstum von Tumorzellen inhibieren. Diese Kombinationspräparate umfassen als Wirkstoffe Verbindungen, die Glutaminase-Aktivität besitzen, in Kombination mit Antineoplastika. Insbesondere betrifft die Erfindung Kombinationspräparate von Glutaminase-Aktivität aufweisenden Verbindungen mit cytostatisch wirksamen Verbindungen.